

249885

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



249885

เรื่อง

การกระจายตัวของยีสต์บริเวณเขื่อนอุบลรัตน์

Distribution of Yeast from Ubonratana Dam

ภายใต้

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Plant Genetic Conservation Project as The Royal Initiation of

Her Royal highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

ชื่อผู้วิจัย

ดร. พลสันต์ มหาจันทร์

ดร. จุฑาพร แสงแก้ว

ดร. ศศิธร จินคามรกฏ

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

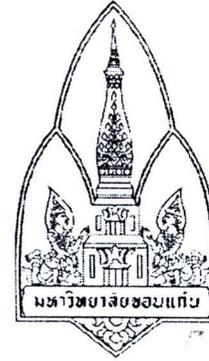
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

600254513



249885



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การกระจายตัวของยีสต์บริเวณเขื่อนอุบลรัตน์

Distribution of Yeast from Ubonratana Dam

ภายใต้

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ

สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Plant Genetic Conservation Project as The Royal Initiation of

Her Royal highness Princess Maha Chakri Sirindhorn

ชื่อผู้วิจัย

ดร. พลสันต์ มหาจันทร์

ดร. จุฑาพร แสงแก้ว

ดร. ศศิธร จินดามรกฏ



โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้เริ่มขึ้นได้ก็ด้วยคำแนะนำอย่างดียิ่งของท่าน รองศาสตราจารย์งามนิจนนทโส ต้องกราบขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้เป็นอันดับแรก นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ทวีศักดิ์ ธิติเมธาโรจน์ คณะเภสัชศาสตร์ ที่ได้ให้ความกรุณาแนะนำเรื่องการอนุกรมวิธานของพันธุ์พืชตัวอย่าง เป็นอย่างดี ขอขอบคุณคุณคณาจารย์ และบุคลากรของภาควิชาจุลชีววิทยา ที่ให้การช่วยเหลือและสนับสนุนการวิจัยเป็นอย่างดี ขอขอบคุณ นางสาวสมพร สาละวัน และนางสาวนัฐกานต์ ชาภูมิ นักศึกษาช่วยวิจัย ที่ช่วยให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่และบุคลากร สำนักงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยเฉพาะคุณ จรรยา บุญเพ็ง ที่กรุณาอำนวยความสะดวก และประสานงานเป็นอย่างดี และต้องขอขอบคุณ บุคลากรจากโครงการ อพ.สธ. สำนักพระราชวัง และเจ้าหน้าที่การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย เป็นอย่างสูง ที่ให้การสนับสนุน และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างในพื้นที่เขื่อน

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552 มหาวิทยาลัยขอนแก่น และอยู่ภายใต้ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

พลสัมพันธ์ มหาจันทร์

สิงหาคม 2553

พลสัมพันธ์ มหาพันธ์ จุฑาพร แสงแก้ว และ ศศิธร จินตมารภฏ. 2552. การกระจายตัวของยีสต์บริเวณเขื่อนอุบลรัตน์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บทคัดย่อ

249885

จากการศึกษาการกระจายตัวของยีสต์ที่แยกได้จากเขื่อนอุบลรัตน์ แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ 1 คัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ที่แยกได้จากเขื่อนอุบลรัตน์ คัดแยกยีสต์ได้ทั้งหมด 118 ไอโซเลต จากตัวอย่าง ใบไม้ ดอกไม้ ผลไม้ และดิน ศึกษาคุณสมบัติของยีสต์ โดยทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า ยีสต์ทั้งหมดสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-35°C อุณหภูมิ 40°C เจริญได้ดี 12 ไอโซเลต และอุณหภูมิ 50°C เจริญได้ดี 2 ไอโซเลต, เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของ NaCl 3-5% และกลูโคส 30-50% มี 53 ไอโซเลตเจริญได้ดีที่ 80% กลูโคส และ 8 ไอโซเลตที่สามารถเจริญได้ดีที่ 15% NaCl, สามารถย่อยโปรตีนได้ 30 ไอโซเลต ย่อยแป้ง 16 ไอโซเลต ย่อยไขมัน 22 ไอโซเลต, เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของเอทานอล 5% และมี 15 ไอโซเลตที่เจริญได้ดีที่ 10%, จากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอทานอลของ 7 ไอโซเลตที่น่าสนใจ พบว่า S13-1 ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน ผลิตเอทานอลได้มากที่สุด 5.6 % v/v ตามด้วย 204-1 ซึ่งแยกได้จากใบไม้ และ S1-1 แยกได้จากตัวอย่างดินผลิตเอทานอลได้ 3.1 % v/v ส่วนที่ 2 การจัดจำแนกสายพันธุ์ยีสต์ สายพันธุ์ที่น่าสนใจที่แยกได้จากส่วนที่ 1 โดยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของ 26S rDNA ของยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่าง ใบไม้ ดอกไม้ ผลไม้และดิน บริเวณเขื่อนอุบลรัตน์ ที่มีคุณสมบัติเด่นในด้านต่างๆ การจัดจำแนกประเภทยีสต์โดยเปรียบเทียบนิวคลีโอไทด์บริเวณ D1/D2 ของยีสต์ ของยีสต์ 20 ไอโซเลต ที่ได้จากตัวอย่าง ดิน ดอกไม้และผลไม้ พบว่า 17 ไอโซเลต เป็น known species และ พบยีสต์ 2 ไอโซเลต คือ F5-1 และ 204-2 เป็น sister species กับเชื้อ *Candida sp.* EN28S10 และ *Kodamaea ohmeri* ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบไอโซเลต S11-1 มีความเป็นไปได้สูงที่จะเป็น new species โดยลำดับนิวคลีโอไทด์มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ใกล้เคียงคือ *Debaryomyces polymorphus* ในระดับที่เป็นยีสต์ชนิดใหม่ได้

คำสำคัญ: ยีสต์, การเจริญ, การย่อยสลาย, แป้ง, เซลลูโลส, โปรตีน, ไขมัน, การบ่งชนิด, แอลกอฮอล์

Polson Mahakhan, Jutaporn Swangkaew and Sasitorn Jindamorakot. 2010. **Distribution of Yeast from Ubonratana Dam**. Department of Microbiology, Faculty of Science, Khon Kaen University.

Abstract

249885

There were two parts of the distribution study of yeast from Ubonratana Dam. Part 1 The 118 yeast strains isolated from leafs, flowers, fruits and soil samples from Ubonratana Dam were studied growth at various temperature. Almost of yeast strains grew well at 25-35 °C. Determined 12 isolates and 2 isolates could grow at 40 °C and 50 °C, respectively. In addition most of isolated yeast grew well at 30-60 % glucose and 3-5 % NaCl. There were 53 isolates could grow at 80% glucose and only 8 isolates could grow at 15 % NaCl. Thirty, sixteen and twenty two isolates could digest protein, starch and xylan respectively. All of the yeast isolates could grow in media at 5% ethanol but only 15 isolates could grow in media with 10% ethanol. Moreover, from the 7 interested strains, the isolate S13-1 from soil could produce highest ethanol level (5.6% v/v). The strain 204-1 from leaf and S11-1 from soils produced ethanol at 3.1 %v/v. Part 2, The 20 interesting yeast strains from leafs, flowers, fruits and soil samples from Ubonratana Dam were identified using by sequencing D1/D2 domain of 26s rDNA. The results showed that, there were 15 isolated as known species, 2 isolated (F5-1, 204-4) as sister species of *Candida* sp. EN28S10 and *Kodamaea ohmeri* respectively. The isolated strain of S11-1 was possibility as a new species, because of the differentiation of nucleotide sequence from closest strain (*Debaryomyces polymorphus*)

Keywords : Yeast, Growth conditions, NaCl, Ethanol production, Amylolytic activity, Proteolytic activity, Xylanolytic activity, identification, D1/D2, 26SrDNA

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ii
บทคัดย่อภาษาไทย	iii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iv
สารบัญ	v
สารบัญตาราง	vii
สารบัญภาพ	viii
บทที่ 1 บทนำ (Introduction)	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย	12
3. ขอบเขตของการวิจัย	12
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	12
บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature review)	13
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย (Research methodology)	19
<u>ส่วนที่ 1</u> การคัดแยกและศึกษาคุณสมบัติของยีสต์	
ที่แยกได้จากเชื้อนอบลรัตน์	23
<u>ส่วนที่ 2</u> การจัดจำแนกประเภทยีสต์โดยเปรียบเทียบนิวคลีโอไทด์	
บริเวณ D1/D2 และสรีรวิทยาและชีวเคมีของยีสต์	
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and discussion)	36
บทที่ 5 ข้อสรุปและ/หรือข้อเสนอแนะ (Conclusions and/or suggestions)	82

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
เอกสารอ้างอิง	88
ภาคผนวก	89
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	90
ภาคผนวก ข สารเคมี	97
ภาคผนวก ค ผลการทดสอบคุณสมบัติต่างๆของยีสต์ 118 ไอโซเลต	101
ภาคผนวก ง ลักษณะของยีสต์ที่แยกได้จากเขื่อนอุบลรัตน์	106

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. จำนวนตัวอย่างที่เก็บจากเขื่อนอุบลรัตน์	36
2. จำนวนยีสต์ที่คัดแยกจากเขื่อนอุบลรัตน์	38
3. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆของยีสต์	43
4. ผลการทดสอบประสิทธิภาพการเจริญที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่างๆของยีสต์	47
5. ผลการทดสอบ การเจริญที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆของยีสต์	52
6. ประสิทธิภาพการย่อยโปรตีน	57
7. ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง	59
8. ประสิทธิภาพการย่อย Xylan	60
9. ผลการเจริญที่ความเข้มข้นของเอทานอลต่างๆ	62
10. ผลการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ของยีสต์ ด้วยเครื่อง Gas Chromatography	66
11. ผลการทดสอบคุณสมบัติต่างๆของยีสต์ 118 ไอโซเลต	102

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ตัวอย่างที่เก็บจากเขื่อนอุบลรัตน์	37
2. ลักษณะโคโลนีของยีสต์และลักษณะเซลล์ที่คัดแยกได้จากเขื่อนอุบลรัตน์	41
3. ความขุ่นการเจริญของยีสต์ที่อุณหภูมิต่างๆ	46
4. การเจริญของยีสต์บนอาหารที่มีองค์ประกอบของน้ำตาล	51
5. การเจริญของยีสต์บนอาหารที่มีองค์ประกอบของเกลือ	56
6. ตัวอย่างไอโซเลตที่สามารถย่อยโปรตีนได้และที่ไม่สามารถย่อยโปรตีนได้	58
7. ตัวอย่างไอโซเลตที่สามารถย่อยแป้งได้และที่ไม่สามารถย่อยแป้งได้	59
8. clear zone ที่เกิดจากการย่อยXylanหลังราดด้วย congo red	61
9. แสดงการเจริญของยีสต์ในอาหารที่มีเอทานอล	65